



Eclética Química

ISSN: 0100-4670

atadorno@iq.unesp.br

Universidade Estadual Paulista Júlio de

Mesquita Filho

Brasil

Ferreira, R. B.; Franzini, V. P.; Gomes Neto, J. A.
Determinação de biureto em uréia agroindustrial por espectrofotometria
Eclética Química, vol. 32, núm. 1, 2007, pp. 43-48
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Araraquara, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42932106>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Determinação de biureto em uréia agroindustrial por espectrofotometria

R. B. Ferreira, V. P. Franzini, J. A. Gomes Neto*

Departamento de Química Analítica, Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, CP 355, 14801-970 Araraquara SP

*anchieta@iq.unesp.br

Resumo: Foi desenvolvido um método espectrofotométrico para a determinação de biureto em fertilizantes à base de uréia empregando $\text{Cu}(\text{OH})_{2(s)}$ como reagente analítico.

O método se baseia na reação entre biureto e $\text{Cu}(\text{OH})_{2(s)}$ e formação do complexo $\text{Cu}(\text{C}_2\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_5)_2$ de coloração violeta cujo espectro apresenta máximo de absorção em 510 nm. Após o estabelecimento das melhores condições analíticas, o método proposto foi aplicado na determinação de biureto em duas amostras comerciais de uréia, uma para pecuária e outra para agricultura. Curvas analíticas construídas no intervalo de concentrações de 0,1 a 0,5% (m/v) em biureto produziram coeficientes de correlação típicos $\geq 0,9990$. Os resultados obtidos pelo método proposto foram concordantes ao nível de 95% de confiança com os obtidos por um método alternativo empregando espectrometria de absorção atômica. A exatidão do método foi também avaliada por meio de testes de adição e recuperação de padrão. Recuperações de 92 a 100% foram obtidas e o desvio padrão relativo calculado para 12 medidas sucessivas de uma amostra contendo 0,31% (m/v) foi 2%.

Palavras-chave: biureto; fertilizantes; espectrofotometria.

Introdução

A uréia é um composto orgânico nitrogenado, solúvel em água e álcool e quimicamente classificada como amida [1]. Ela é uma das fontes de nitrogênio mais utilizadas para suprir parcialmente as deficiências protéicas das gramíneas constituintes das pastagens, e apresentando tal potencial, substitui parcialmente as fontes alimentícias protéicas usuais à base de farelos e tortas oleaginosas [2]. O fornecimento adequado de uréia estabelece um bom equilíbrio protético energético dos alimentos.

A uréia foi identificada quimicamente em 1770, mas foi apenas em 1891 que se descobriu que os ruminantes sintetizavam proteína a partir dela [3]. A falta de alimento para o rebanho bovino durante a primeira guerra mundial propagou o

uso da uréia pela Europa, Estados Unidos, e outras regiões do planeta.

Biureto ($\text{NH}_2\text{CONHCONH}_2$) é um composto orgânico formado durante a produção da uréia [4] e pode estar presente em uréia agrícola empregada na lavoura como fertilizante e na pecuária, neste caso como suplemento alimentar. Contudo, biureto é classificado como contaminante da uréia por apresentar toxicidade para os ruminantes e também para as plantas [5]. Métodos analíticos simples, robustos e de fácil implantação em laboratórios de análise química são de interesse acadêmico, contudo podem beneficiar os setores industriais e comerciais em geral e dos consumidores em particular pela disponibilidade desse tipo de serviço.

Entre os vários métodos desenvolvidos para a determinação de proteínas totais, destaca-se o do biureto que se baseia na reação do reativo do biure-

to, que é uma mistura de íons Cu^{2+} , $\text{Cu}(\text{OH})_2$ e tartrato de sódio, sendo este último um complexante que estabiliza Cu^{2+} em solução [6]. Em meio alcalino $\text{Cu}(\text{II})$ reage com proteínas formando um complexo quadrado planar com a ligação peptídica. O produto de reação na fase solúvel apresenta duas bandas de absorção, com máximos em 270 nm e 540 nm. Apesar de o primeiro máximo ser cerca de seis vezes mais sensível [7], o segundo é o mais utilizado para fins analíticos porque diversas substâncias, normalmente presentes na maioria dos meios analisados, absorvem na região do ultravioleta causando interferências.

O biureto em solução de sulfato de cobre resulta em uma solução violeta [8] e este é o princípio do método utilizado para determinar biureto em fertilizantes e suplementos alimentares animais e é o recomendado pela AOAC como método oficial [9]. Este método é suscetível à interferência de amônia e de fosfatos, que pode ser minimizada pela substituição de íons Cu^{2+} por Ni^{2+} , mas nesse caso outros cátions interferem [15]. Outro ponto a ser considerado é a produção de quantidades consideráveis de resíduos de $\text{Cu}(\text{OH})_{2(s)}$, que devem ser tratados adequadamente para eventual reaproveitamento. A titulação por EDTA do complexo Cu^{2+} -biureto é proposta na literatura para a determinação de biureto, mas o tratamento prévio da amostra visando a separação do complexo por extração é requerido [10]. Biureto pode ser também determinado indiretamente por espectrometria de absorção atômica [11]. Esse método se baseia na determinação do cobre presente na solução do sobrenadante após a mistura da amostra com o reagente (solução alcalina e etanólica de hidróxido de cobre). Com base nos métodos existentes na literatura e levando-se em consideração a possibilidade de minimizar a geração de resíduos, um dos princípios da Química Verde [12], estudou-se o desempenho de dois métodos analíticos para a determinação de biureto por espectrofotometria e por espectrometria de absorção atômica empregando como reagente analítico o $\text{Cu}(\text{OH})_{2(s)}$. Nessa proposta, o resíduo final gerado é totalmente aproveitado, após secagem, como reagente analítico.

Material e Métodos

Reagentes e soluções

As soluções foram preparadas com água de alta pureza (resistividade = 18,2 M.Ω.cm) purifica-

da em sistema de osmose reversa Millipore Rios 5® combinado com desionizador Millipore Milli-Q Academic®. As soluções analíticas de biureto [0,1 – 0,2 – 0,3 – 0,4 – 0,5% (m/v)] foram preparadas respectivamente pela dissolução de 100, 200, 300, 400 e 500 mg de biureto (Carlo Erba, # 428432) em solução contendo cerca de 20 mL de água + 25 mL de etanol (Mallinckrodt) + 1 mL de solução 1% (m/v) de amido + 10 mL de solução 5% (m/v) KCl + 10 mL de solução 5% (m/v) KOH. A solução resultante foi transferida para balões de 100 mL e estes avolumados para 100 mL com água. A suspensão de goma de amido estabiliza o complexo $\text{Cu}(\text{C}_2\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_5)_2$ na solução. A estrutura polimérica helicoidal do amido permite que moléculas do complexo se ajustem no seu centro, formando cadeias de ligações cobre-nitrogênio, fazendo com que a coloração do complexo permaneça por muito mais tempo. O meio etanol-água tem a função de aumentar a solubilidade do biureto, enquanto o cloreto de potássio atua no ajuste da força iônica do meio.

Suspensão 1% (m/v) de amido foi preparada pela mistura de 1 g de amido e algumas gotas de água até a formação de uma pasta, e posterior adição de 100 mL de água fervente, seguida de 2 g KI, agitando para dissolução e homogeneização [13]. Esta suspensão foi armazenada em frasco âmbar.

O hidróxido de cobre foi preparado pela dissolução de 12 g CuSO_4 em aproximadamente 100 mL de água seguida da adição lenta de 20 mL de solução 4 mol L^{-1} NaOH sob lenta agitação. O precipitado de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ é separado por meio de filtração à vácuo após lavagem abundantemente com água fria (cerca de 500 mL) para remover resíduos de sulfato de cobre.

Determinação da estequiometria do complexo

A estequiometria do complexo Cu-Biureto foi determinada pelo método de Job ou método das variações contínuas [14]. Foram preparadas 13 soluções contendo diferentes concentrações de Cu^{2+} e biureto, sendo que a concentração final (soma da concentração de biureto e de Cu^{2+}) constante e igual a 0,15 mol L^{-1} . A absorbância medida é colocada em gráfico *versus* fração molar do metal.

Influência do tempo de reação na absorbância

Para se determinar o tempo ótimo de reação entre biureto e hidróxido de cobre, foram preparadas seis soluções contendo 25% (v/v) de etanol, 5% (m/V) de KOH, 5% (m/V) KCl, 1% (v/v) amido, 0,3% (m/V) de biureto e 600 mg de

Cu(OH)_2 . O branco foi preparado nas mesmas condições, porém sem o biureto. Retirou-se alíquotas de 5 mL de cada frasco a diferentes períodos (5 – 15 – 30 – 45 – 60 minutos), filtrando-as em algodão e coletando-as diretamente na cubeta do espectrofômetro para a leitura.

Influência da quantidade de Cu(OH)_2

A influência da quantidade de hidróxido de cobre na absorbância foi estudada medindo-se a absorbância de uma solução padrão de biureto contendo 0,3% (m/V) e diferentes (0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,8 - 1,2 - 1,6 - 2,0% m/V) de $\text{Cu(OH)}_{2(s)}$.

Análise das amostras

A exatidão do método proposto foi verificada por meio de testes de adição e recuperação do analito. Cinco soluções 40% (m/v) de amostras de uréia pecuária e de uréia fertilizante foram preparadas de modo a conter 0% - 0,10% - 0,15% - 0,20% - 0,40% m/v de biureto + 25% v/v de etanol + 0,01% (m/v) de amido + 0,5% (m/v) KCl + 0,5% (m/v) KOH + 1,2% (m/v) Cu(OH)_2 . Deve ser comentado que o hidróxido de cobre é o último reagente a ser adicionado. A suspensão é agitada por 30 minutos e em seguida uma alíquota de aproximadamente 2 mL é filtrada em algodão e coletada diretamente na célula do espectrofômetro. O teste de adição e recuperação foi feito também com a técnica espectrometria de absorção atômica em chama para verificar o potencial desta técnica para eventual determinação de biureto. Uma solução analítica foi preparada pela dissolução de 400 mg de biureto, seguida da adição de 25 mL de etanol, 1 mL de solução 1% (m/v) de amido, 10 mL de solução 5% (m/v) KCl, 10 mL de solução 5% (m/v) KOH, 1,2 g Cu(OH)_2 , e o volume completado a 100 mL. Agitou-se a suspensão por 30 minutos, e em seguida uma alíquota de aproximadamente 10 mL é filtrada em algodão e coletada em balão de 100 mL. Adiciona-se cerca de 50 mL de água, 8 mL de HCl concentrado e avoluma-se até a marca com água. Esta solução apresenta concentração de biureto igual a 40 mg L⁻¹. Soluções analíticas de calibração de 4,0 - 8,0 - 12,0 - 15,0 - 20,0 mg L⁻¹ foram preparadas por diluição apropriada do padrão de 40,0 mg L⁻¹, sempre acidificadas a 0,5 mol L⁻¹ HCl. Em relação às amostras, as alíquotas filtradas eram diluídas na ordem de 100 vezes para atender ao intervalo de resposta linear da curva analítica da AAS. Deste modo as soluções das amostras foram analisadas no espectrômetro de absorção atômica

de chama, tendo como comprimento de onda mais sensível $\lambda=324,8$ nm para Cu e a mistura dos gases ar/acetileno foi empregada para a atomização. As soluções das duas amostras que não sofreram adição serviram para a análise das amostras.

Instrumentos e acessórios

Os instrumentos utilizados foram um espectrofômetro Fento modelo 482, equipado com cubeta de vidro de 10 mm de caminho óptico, operado a 510 nm, e um espectrômetro de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução AnalytikJena modelo contrAA 300 equipado com lâmpada GLE (Berlin, Alemanha) de arco curto de xenônio de 300 W de potência e 17 atm de pressão interna, operante no modo “hot spot”, levando a um aumento na potência de radiação, especialmente em comprimentos de onda < 280 nm, foi empregado para determinar cobre no comprimento de onda 324,8 nm. Outros equipamentos utilizados foram os de uso rotineiro em laboratórios de análise química como agitador magnético Corning Model PC-320, balança analítica Sartórius BL 2110S, estufa de circulação e renovação de ar Tecnal TE-394/2.

Resultados e Discussão

Espectro de absorção do complexo Cu(II)-Biureto

Inicialmente foi feito um estudo para determinar o comprimento de onda nominal do equipamento de medida associado ao comprimento de onda de máxima absorção do complexo Cu(II)-biureto. O espectro de absorção molecular foi construído no intervalo de 400 a 800 nm e um máximo de absorção foi obtido em 510 nm, o comprimento de onda escolhido para efetuar as medidas subsequentes por espectrofotometria.

Determinação da estequiometria do complexo Cu(II)-Biureto

O experimento seguinte foi planejado para determinar a estequiometria do complexo. O conhecimento da estequiometria da reação permite calcular a massa molar e a absorvidade molar do complexo. O gráfico ilustrando a variação da absorbância em função da variação da fração molar (x) do metal revelou que no ponto de máximo, onde $dc/dx = 0$ e que corresponde a x^{\max} , obteve-se uma relação metal (m) para ligante (n) igual a 0,33, que substituído na equação $1-x^{\max}/x^{\max}$ [14] forneceu uma estequiometria 2:1 (ligante:metal). A possível

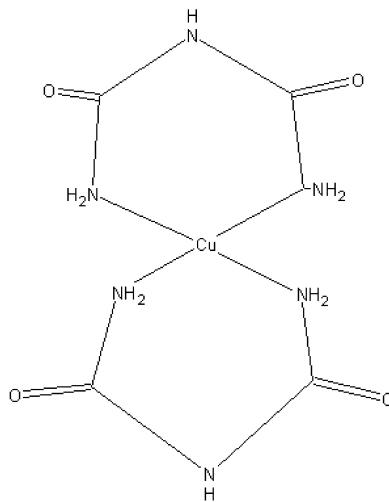


Figura 1. Estrutura do complexo $\text{Cu}(\text{C}_2\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_5)_2$.

estrutura do complexo $\text{Cu}(\text{C}_2\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_5)_2$, ilustrada na Figura 1, está coerente com o número de coordenação do íon cobre divalente e com a classificação da força relativa dos ácidos e bases [15].

Influência do tempo de reação na absorbância

A estratégia de adicionar $\text{Cu}(\text{OH})_{2(s)}$ como reagente requer a otimização da massa de hidróxido de cobre e do tempo de reação entre esse reagente e o analito. Para avaliar a influência do tempo de reação na formação do complexo, avaliou-se a influência da variação (5 a 60 minutos) do tempo de

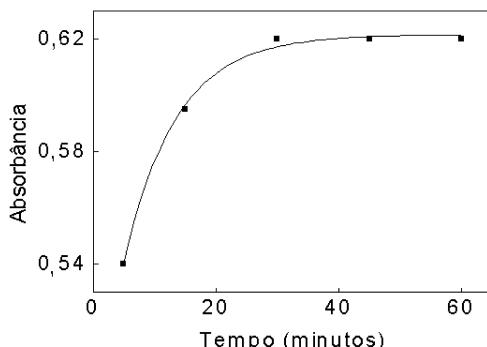


Figura 2. Influência do tempo de reação na absorbância. Sinais referem-se a uma solução 0,3% (m/V) de biureto medida por espectrofotometria ($\lambda = 510\text{nm}$).

agitação de uma suspensão contendo 400 mg $\text{Cu}(\text{OH})_2$ e 0,3% (m/v) de biureto na absorbância (Fig. 2). Análise desta figura revela que a absorbância aumenta com o aumento do tempo de agitação até 30 minutos, a partir do qual permanece constante. Sendo assim, 30 minutos foi o tempo de agitação escolhido para dar continuidade aos estudos.

Influência da quantidade de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ na absorbância

Definido o tempo de agitação, o estudo seguinte foi avaliar a influência da variação da massa de hidróxido de cobre (100 a 2000 mg) na absorbância. A Figura 3 ilustra o aumento da absorbância com o aumento da massa de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ até aproximadamente 1200 mg, a partir da qual a absorbância praticamente permanece constante. Levando em consideração a minimização de geração de resíduos e eficiência de reação, a massa de reagente selecionada foi 1200 mg.

Deve ser comentado que o método da AOAC [8] aproveita cerca de 2% do total do sulfato de cobre adicionado, se levarmos em consideração uma solução padrão contendo 0,4% (m/v) em biureto e uma concentração de sulfato de cobre igual a 1,5% (m/v). Nesse caso o excesso de íons Cu^{2+} é convertido no respectivo hidróxido, e a solução remanescente da amostra não pode ser utilizada diretamente para outras determinações. No método proposto no presente trabalho, um padrão de biureto de 0,4% (m/v) consome estequiométricamente 188 mg $\text{Cu}(\text{OH})_{2(s)}$ das 1200 mg utilizadas. O excesso de aproximadamente 1000 mg pode ser reaproveitado após separação, secagem etc.

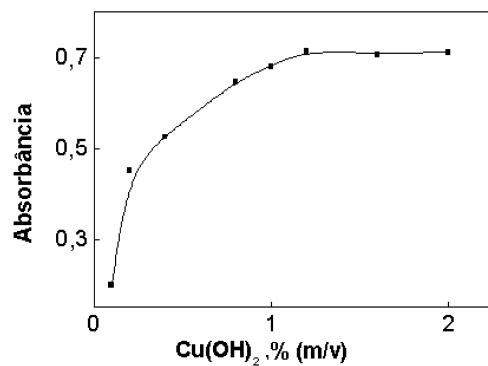


Figura 3. Influência da massa de $\text{Cu}(\text{OH})_{2(s)}$ na absorbância. Sinais referem-se a uma solução 0,3% (m/V) de biureto medida por espectrofotometria ($\lambda = 510\text{nm}$).

Análise de amostras comerciais

Dada a inexistência de material de referência para biureto para comprovar a exatidão analítica, esta foi avaliada por meio da análise de duas amostras comerciais pelo método proposto e por outra técnica analítica. Duas amostras de uréia agrícola, uma empregada como suplemento alimentar para bovinos e outra para uso na agricultura como fertilizante foram preparadas e analisadas pelo método proposto e por espectrometria de absorção atômica em chama (AAS). Os resultados foram analisados por testes estatísticos bem estabelecidos, com ênfase na precisão e exatidão das medidas, estabelecendo-se os intervalos de confiança da média. A precisão das medidas foi estimada por meio do cálculo do desvio padrão das mesmas. A avaliação da existência de uma diferença significativa na precisão entre o conjunto de dados obtido pelo método proposto e o conjunto obtido pelo método comparativo foi feita pelo teste F [16], por meio da equação $F = s_1^2 / s_2^2$, na qual s^2 são as variâncias que sempre são dispostas de modo que o valor de F seja ≥ 1 . Para a comparação entre as médias experimentais dos métodos citados, utilizou-se o teste t pareado que serve para indicar se existe ou não diferença significativa entre as médias e suas incertezas para os diferentes métodos [16], conforme a equação $t = dna$ qual d é a média da diferença entre os valores que formam cada par, $s.d.$ é o desvio padrão da média das diferenças (d) e n é o número de repetições. Em relação ao método proposto, curvas analíticas construídas no intervalo de concentrações de 0,1 a 0,5% (m/v) em biureto produziram coeficientes de correlação típicos $\geq 0,9990$ (Figura 4). Os resultados analíticos estão na Tabela 1 e análise desta tabela revela que os valores obtidos para as duas amostras foram concordantes com os obtidos por AAS ao nível de 95% de confiança.

A exatidão do método foi também avaliada por meio de testes de adição e recuperação de padrão. A exatidão foi também avaliada por meio de teste de adição e recuperação do analito. Esse teste foi feito com amostras de fertilizantes preparadas de modo a conter 0 – 0,1 – 0,15 – 0,2 – 0,4% (m/v) de biureto. Recuperações entre 92 e 100% foram obtidas para o método proposto e para AAS. A principal contribuição observada para o método com detecção por FAAS refere-se à possibilidade de determinar um composto orgânico com uma técnica elementar via determinação indireta de cobre. Determinando o teor total de cobre, um outro aspecto que merece destaque para a FAAS é que eventual

al decomposição do complexo Cu-biureto não influencia a determinação do biureto, diferentemente do que ocorre com a espectrofotometria. O desvio padrão relativo calculado para 12 medidas sucessivas de uma amostra contendo 0,31% (m/v) foi 2%. O limite de detecção (L.D.) e o limite de quantificação (L.Q.) foram calculados de acordo com a recomendação da IUPAC [17] e apresentaram os seguintes valores 0,011 e 0,04 % (m/v) de biureto, respectivamente.

Tabela 1. Resultados comparativos ($n=3$) da determinação de biureto em uréia pecuária (A_1) e uréia fertilizante (A_2) e da recuperação ($A_{1.1} - A_{1.4}$; $A_{2.1}-A_{2.4}$) obtidos pelo método proposto (UV-VIS) e por espectrometria de absorção atômica em chama (AAS). As incertezas estão expressas em desvio padrão.

Amostra	Biureto encontrado, % m/m		Recuperação, %	
	UV-VIS	AAS	UV-VIS	AAS
A_1	$0,37 \pm 0,01$	$0,37 \pm 0,01$	—	—
$A_{1.1}$			100	100
$A_{1.2}$			97	100
$A_{1.3}$			92	99
$A_{1.4}$			98	99
A_2	$0,71 \pm 0,01$	$0,76 \pm 0,03$	—	—
$A_{2.1}$			100	92
$A_{2.2}$			100	100
$A_{2.3}$			99	97
$A_{2.4}$			98	100

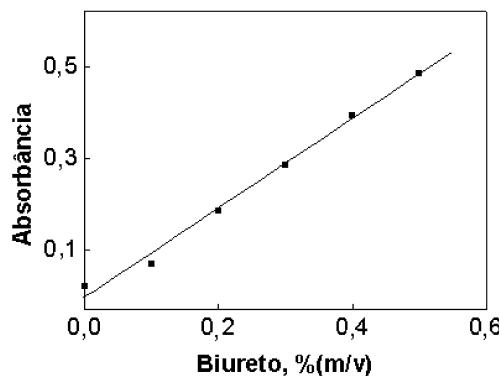


Figura 4. Curva analítica empregada para determinar biureto por espectrofotometria.

Conclusões

O emprego de $\text{Cu(OH)}_{2(\text{s})}$ como reagente analítico foi eficaz na determinação de biureto em uréias comerciais por espectrofotometria e por espectrometria de absorção atômica e minimizou a geração de resíduos. Um aspecto positivo a ser destacado é a possibilidade de reciclar o reagente analítico $\text{Cu(OH)}_{2(\text{s})}$ mediante simples secagem.

Reagentes sólidos empacotados são facilmente utilizáveis em associação com sistemas de análises químicas por injeção em fluxo. Como $\text{Cu(OH)}_{2(\text{s})}$ foi viável da determinação de biureto

por batelada, visualiza-se como promissor a automatização desse método mediante o emprego de colunas empacotadas com $\text{Cu(OH)}_{2(\text{s})}$.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP o auxílio financeiro concedido, a CAPES pela bolsa de V.P.F. e ao CNPq pela bolsa de J.A.G.N.

Recebido em: 15/12/2006

Aceito em: 23/02/2007

R. B. Ferreira, V. P. Franzini, J. A. Gomes Neto. Determination of biuret in agroindustrial urea by spectrophotometry.

Abstract: A spectrophotometric method for the determination of biuret in urea-based fertilizers using $\text{Cu(OH)}_{2(\text{s})}$ as analytical reagent is proposed. The principle of the method is the reaction between biuret and $\text{Cu(OH)}_{2(\text{s})}$ and formation of the purple complex $\text{Cu}(\text{C}_2\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_5)_2$ that presents absorption maximum at 510 nm. After establishment of analytical conditions, the method was applied to the determination of biuret in two commercial urea samples used as fertilizer and foodstuffs in agriculture. For analytical solutions prepared in the 0.1 – 0.5% (m/v) biuret, analytical curves with typical correlation coefficient of 0.9990 were always obtained. Results obtained by the proposed procedure were in agreement with those obtained by atomic absorption spectrometry at 95% confidence level. Accuracy was also evaluated by means of addition and recovery tests using spiked samples with biuret. Recoveries in the 92 – 100% were obtained and the calculated relative standard deviation of a sample containing 0.31% (m/v) biuret after twelve successive measurements was 2%.

Keywords: biuret; fertilizer; spectrophotometry.

Referências

- [1] <http://www.dpv24.iciag.ufu.br/new/dpv24/Apostilas/Qualidade%20Fertilizantes%20-%20Rodella%2003.pdf>, Acessado em 22 set. 2006.
- [2] T. C. Woodis Junior; G. B. Hunter. An Indirect Determination of Biuret in Mixed Fertilizers and Urea by Atomic Absorption Spectrophotometry. Tennessee Valley Authority. AL 35660. Division of Chemical Development, Muscle Shoals. p22-25.
- [3] W. F. Ganong, Review of Medical Physiology, Prentice-Hall Inc., San Francisco, 17th ed., 1995, pp.781.
- [4] P. McDonald, R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, Animal Nutrition, Longman Scientific & Technical, Hong Kong, 4th ed, pp.543, 1987.
- [5] National Academy of Sciences-National Research Council. Recommended Dietary Allowances, Publ. 0-309-02216-9, Washington (1974).
- [6] A. G. Gornall, C. J. Baradawill, M. M. David, Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J. Biol. Chem., v. 177, (1949) p. 751-766.
- [7] R. F. Itzhaki, D. M. Gill, Anal. Biochem. 9 (4) (1964) 401.
- [8] Official Methods of Analysis 12th ed., AOAC, Washington, DC, secs. (1975) pp.2072-2074.
- [9] V. M. Makarevich, A. E. Koyander, Agrokhimiya 1 (1970) 139.
- [10] K. C. Sinfhal, R. C. P. Sinha, B. K. Banerjee, Technology 6 (2) (1969) 95.
- [11] L. H. Marcolino Júnior, V. G. Bonifácio, O. F. Fatibello, M. F. S. Teixeira, Química Nova 28 (5) (2005) 783.
- [12] K. Soszgen, S. D. Cekic, E. Tudem, A. Apak, Talanta 68 (5) (2006) 1601.
- [13] A. I. Vogel, A text Book of Quantitative Analysis, Longman, London, 3. ed., pp.1216, 1961.
- [14] D. A. Skoog, F. G. Holler, T. A. Nieman, Princípios de Análise Instrumental, Bookman, Porto Alegre, 5. ed., 2002, pp.836.
- [15] D. C. Harris, Análise Química Quantitativa, LTC, Rio de Janeiro, 6.ed., 2005 .pp.252.
- [16] J.C. Miller, J.N. Miller, Statistics for Analytical Chemistry, Halsted Press, Chichester-England, 2th ed., 1988, pp.227.
- [17] Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis-II. data interpretation Analytical chemistry division, Spectrochimica Acta part B, 33 (6) (1978) 241.